

正常人子宫颈长期器官培养 的超微结构研究

鲍家驹 赵维敏 李 昆 吴淑英* 张 卫

(中国医学科学院基础医学研究所生物物理研究室)

器官培养既能在一定程度上保持组织的完整性,又能使各种因素同时作用于各种类型的细胞,所以它已越来越广泛的用于癌变原理的研究。为了延长组织在体外存活的时间,并能适应研究组织代谢的需要,培养的方法也在不断的改进。近年来,“摇摆法”已逐渐为人们所采用。“摇摆法”培养和其它器官培养方法的主要不同之处在于它利用机械装置,使培养物交替地处于培养液和按一定比例配制的混合气体之中。气液的交替更接近于体内环境,因此组织在体外存活的时间能延长。

二十例诊断为宫体及卵巢良性疾病的正常宫颈,来自首都医院妇产科。子宫离体后在无菌条件下尽快取下上皮及其下的薄层间质。先将鳞状上皮和柱状上皮分开,然后切成 $5 \times 3 \times 3 \text{ mm}^3$ 的小块,上皮面向上置于60 mm培养皿中。每个培养皿加入3—5 ml培养液(199培养基中加入10%谷氨酰胺、5%灭活的小牛血清和青、链霉素,用7% NaHCO_3 调pH到7.0左右),然后把它们放在一个密闭的小盒中,充以含45% O_2 、5% CO_2 和50% N_2 的混合气体。小盒放在每分钟能摇摆八次的摇摆器上,摆动角度 $\pm 5^\circ$ 左右,使组织能交替的浸在培养液和暴露在混合气体之中。每星期换气液三次。培养温度为 37°C 。

培养前和培养一定时间后同时作光学和透射电子显微镜观察,并于培养四周时作 ^3H -白氨酸参入的放射自显影观察。

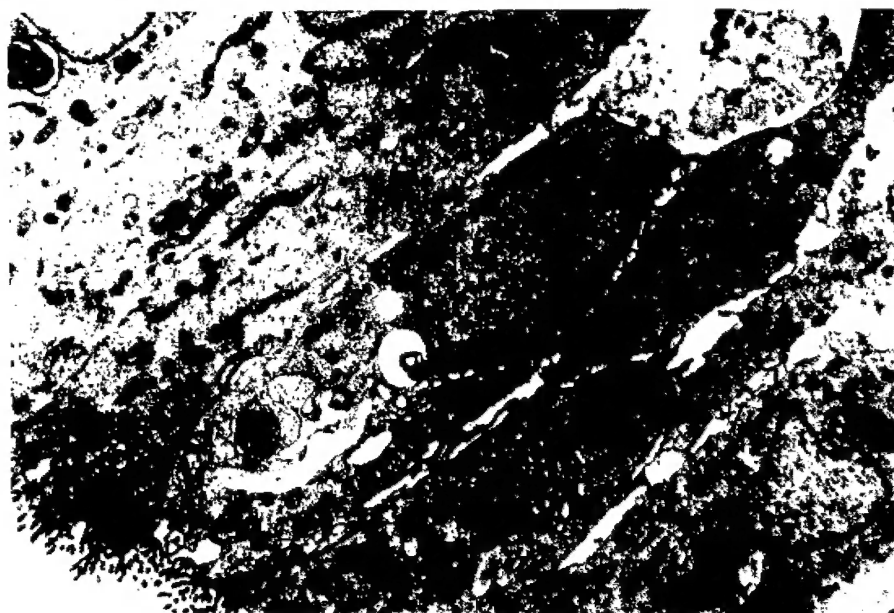
在培养的过程中,鳞状上皮乳头消失,表层细胞逐渐脱落,基板完整,基底细胞偶见分裂相但生长并不活跃,因此细胞的层数逐渐减少。基底细胞形态基本正常,核大,常染色质丰富,核仁明显,胞质内有线粒体、内质网、高尔基复合器和成束的张力原纤维,胞膜有很多突起,相邻细胞的突起形成桥粒。(图1)培养早期柱状上皮细胞分泌旺盛,核上移,胞质中富含线粒体、分泌颗粒和纤维小体。细胞间隙增大,内含粘液样物质。培养后期柱状上皮细胞核位于基底部,胞质内分泌颗粒减少,有各种次级溶酶体。细胞间隙较早期时小。靠近腔面的相邻细胞间可见细胞连结。(图2)不论是鳞状上皮还是柱状上皮,高尔基复合器的方向发生改变,形成面和小泡向着细胞表面,而成熟面和大泡向着细胞核。这种现象的出现可能与培养条件下营养和氧气来源的变化有关。

培养四周的鳞状上皮和柱状上皮细胞内均可见到放射性自显影颗粒,证明了细胞有蛋白质的合成代谢。

由上述方法表明,鳞状上皮能在体外存活八周,保持正常的细胞形态和组织结构四周(图3);柱状上皮能在体外存活十周,保持正常的细胞形态和组织结构八周(图4)。

由于“摇摆法”器官培养使细胞存活期的大大延长,为研究特别是癌变的研究初步提供了较好的模型。

* 中国医学科学院抗瘤研究所药理研究室



上图：培养二周的宫颈鳞状上皮 $\times 16,000$

下图：培养八周的宫颈柱状上皮 $\times 4,400$